

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT IM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
17. Juni 2004 (17.06.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 2004/051280 A2(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: G01N 33/564,  
C07K 7/04, 7/08

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2003/003988

(22) Internationales Anmeldedatum:  
28. November 2003 (28.11.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
102 56 897.9 29. November 2002 (29.11.2002) DE  
103 03 120.0 27. Januar 2003 (27.01.2003) DE  
103 27 066.3 13. Juni 2003 (13.06.2003) DE(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US): MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKU-  
LARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10,  
13125 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WALLUKAT, Gerd  
[DE/DE]; Wolkensteinstrasse 4, 13129 Berlin (DE).(74) Anwälte: LANGE, Sven usw.; Gulde Hengelhaupt Ziebig  
& Schneider, Schützenstr. 15-17, 10117 Berlin (DE).(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,  
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,  
CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,  
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,  
KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG,  
MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL,  
PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR,  
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (BW,  
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,  
ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,  
TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ,  
DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC,  
NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF,  
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD,  
TG).

## Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-  
öffentlichen nach Erhalt des BerichtsZur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-  
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-  
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der  
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: IDENTIFICATION OF AGONISTIC AUTOANTIBODIES

(54) Bezeichnung: BESTIMMUNG AGONISTISCHER AUTOANTIKÖRPER

(57) Abstract: The invention relates to a method for detecting disease-associated autoantibodies, which recognize extracellular structures of G protein-coupled receptors, and to the use of peptides, which comprise these loops or fragments thereof, for treating autoimmune diseases.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Detektion von krankheitsassoziierten Autoantikörpern, die extrazelluläre Strukturen von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren erkennen, und die Verwendung von Peptiden, die diese Loops oder Fragmente dieser umfassen, zur Behandlung von Autoimmunkrankheiten.



WO 2004/051280 A2

---

Bestimmung agonistischer Autoantikörper

---

5

**Beschreibung**

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Detektion von krankheitsassoziierten Autoantikörpern, die Loops von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren binden, und die Verwendung von Peptiden, die diese Loops oder Fragmente dieser umfassen, zur Behandlung von Autoimmunkrankheiten.

Das Immunsystem mehrzelliger Organismen beruht auf der Unterscheidung zwischen "selbst" und "nicht selbst". Aufgrund seiner großen Diversität verfügt das "selbst" und "nicht selbst" unterscheidende Immunsystem über ein großes Repertoire von Spezifitäten, die insbesondere von T- und B-Zellen exprimiert werden. Mittels komplizierter Mechanismen ist das Immunsystem zur Unterscheidung zwischen "selbst" und "nicht selbst" befähigt, mit denen sich der Körper insbesondere vor den Folgen der so genannten Autoimmunität schützen kann. Das heißt, die humoralen und zellulären Bestandteile des Immunsystems eines Organismus sind so ausgeprägt, dass sie sich nicht gegen den Organismus selbst richten. Innerhalb des Immunsystems kann es jedoch zu vielfältigen Störungen kommen, besonders können die Mechanismen der Selbstkennung eingeschränkt oder völlig ausgeschaltet werden. Daher gibt es eine Reihe von Erkrankungen, die durch Autoantikörper oder autoreaktive T-Zellen ausgelöst werden können. Eine der ersten Krankheiten, bei denen Autoantikörper gegen ein bestimmtes Organ

gefunden wurden, ist die Thyreoiditis Hashimoto. Es handelt sich hierbei um eine Schilddrüsenerkrankung, die hauptsächlich bei Frauen mittleren Alters auftritt und zur Ausbildung eines Kropfes und zur Unterfunktion der Schilddrüse führt. Sofern die Krankheit nicht behandelt wird, kommt es zur vollkommenen Zerstörung und Schrumpfung des Organs. Neben Autoantikörpern, die ausschließlich gegen ein Organ gerichtet sind, gibt es zahlreiche Autoantikörper, die gegen mehrere Organe bzw. Gewebetypen gerichtet sein können.

Entsprechend der Ausrichtung der Autoantikörper können organspezifische und nichtorganspezifische Autoimmunerkrankungen unterschieden werden. Typische organspezifische Autoimmunerkrankungen sind beispielsweise die vorzeitige Menopause, der juvenile Diabetes, männliche Unfruchtbarkeit, perniziöse Anämie oder Morbus Addison. Zu den nichtorganspezifischen Autoimmunerkrankungen gehören beispielsweise die rheumatoide Arthritis, die Dermatomyositis, die Sklerodermie oder gemischte Bindegewebserkrankungen und andere. Als Zielorgane der organspezifischen Erkrankung sind häufig die Schilddrüse, die Nebenniere, der Magen und das Pankreas befallen, die nichtorganspezifischen Erkrankungen werden unter dem Begriff des so genannten rheumatischen Formenkreises zusammengefasst und betreffen die Haut, die Niere, die Gelenke und die Muskeln. Für die Diagnose und die Behandlung von Autoimmunerkrankungen sind bisher nur wenige, unzureichende Verfahren bekannt. Mit den bekannten Laborroutinen, wie beispielsweise ELISA oder anderen gut eingeführten diagnostischen Verfahren, die sich beispielsweise im Massenscreening unter den Labor-

bedingungen einer Klinik bewährt haben, ist es nicht möglich, die oft nur in geringen Konzentrationen vorhandenen Autoantikörper im Serum eines Patienten nachzuweisen. Die Behandlung erfolgt bei organspezifischen Erkrankungen meistens durch Herstellung des metabolischen Gleichgewichtes; zum Beispiel wird bei einer Schilddrüsenunterfunktion das fehlende Schilddrüsenhormon mit Thyroxin substituiert, und bei der Thyreotoxikose können Antimetaboliten des Hormons gegeben werden. Bei der perniziösen Anämie kann ein Depot von Vitamin B<sub>12</sub> parenteral verabreicht werden und bei der Myasthenia gravis können Cholinesterase-Inhibitoren gegeben werden. Sofern ein kompletter Funktionsverlust des Organs eingetreten ist, sind beispielsweise eine Organübertragung oder eine Implantation einer Prothese möglich. Derartige Therapieverfahren sind bei organunspezifischen Autoimmunerkrankungen nicht geeignet, da hierzu beispielsweise eine ganze Gruppe von Organen, wie beispielsweise die Haut, die Niere, die Gelenke und die Muskeln, in einem Patienten substituiert werden müsste, wobei alleine die Substitution der Gelenke, der Muskeln und/oder der Haut nahezu unmöglich ist. Eine weitere Möglichkeit der Behandlung von Autoimmunkrankheiten ist die Möglichkeit, die die Krankheit induzierenden Autoantikörper zu binden, zu komplexieren und folgend aus dem Serum zu eliminieren. Derartige Verfahren können jedoch nur dann erfolgreich in Diagnose oder Therapie eingesetzt werden, wenn ein Target, ein Agens oder eine Struktur bekannt sind, mit denen die Autoantikörper so wechselwirken, dass sie mit Hilfe des Agens oder des Targets detektiert oder eliminiert werden können. Für zahlreiche Autoimmunerkrankungen, wie zum Beispiel die Autoantikörper assoziierte

Hypertonie, die Präeklampsie, die humorale Nierenabstoßung oder die Chagas' Kardiomyopathie, sind derartige Agenzien nicht bekannt. Bisherige Diagnoseverfahren, wie beispielsweise Bioassays, sind schwer zu handhaben und daher für die Laborroutine ungeeignet. Bekannte Bioassays sind z. B. Herzmyozyten-Kulturen zum Nachweis von Angiotensin II AT1-Rezeptor-Autoantikörpern.

Aufgabe der Erfindung war es daher, Mittel, Vorrichtungen und Verfahren zur Diagnose von Autoantikörpern und Therapien von Autoimmunerkrankungen bereitzustellen, die eine einfache, effiziente und sichere Detektion oder Behandlung erlauben und die genannten Nachteile nicht aufweisen.

15

Die Erfindung löst dieses technische Problem durch die Bereitstellung eines Verfahrens zur Detektion von krankheitsassoziierten Autoantikörpern, die gegen G-Proteingekoppelte Rezeptoren gerichtet sind, wobei das Verfahren folgende Schritte umfasst:

20

- a) In-Kontakt-Bringen von Körperflüssigkeit mit einem denaturierenden Agens,
- 25      b) In-Kontakt-Bringen der gefällten Fraktion mit einem insbesondere Biotin umfassenden Peptid, welches eine Teilsequenz des ersten und/oder zweiten Loops des Rezeptors umfasst, wobei eine Mixtur entsteht,
- 30      c) Inkubation der Mixtur mit einem insbesondere Avidin oder Streptavidin-beschichteten Träger,

- d) Waschen der Materialien des Trägers,
- e) Inkubation der Träger mit anti-IgG-Subklassen,  
5 wobei der anti-IgG-Antikörper markiert ist und
- f) Durchführung einer Detektions-, insbesondere einer  
Enzym- oder Farbreaktion.

10 Die Erfindung betrifft also die überraschende Lehre, dass es möglich ist, mit Hilfe einer Enzym- oder Farbreaktion, beispielsweise in einem in Laborroutinen üblichen ELISA, krankheitsassoziierte Autoantikörper, die insbesondere gegen G-Protein-gekoppelte Rezeptoren gerichtet sind, zu  
15 detektieren. Dies betrifft insbesondere Autoantikörper, die mit den Krankheiten der dilatativen Kardiomyopathie, der Chagas' Kardiomyopathie, der Myokarditis, der Präeklampsie, der humoralen Nierenabstoßung, der alignen Hypertonie, der essentiellen Hypertonie, der refraktären Hypertonie, der  
20 pulmonaren Hypertonie, der Psoriasis und/oder dem Raynaud-Syndrom in Verbindung stehen, bevorzugt sind die Antikörper agonistischer Autoantikörper. Bevorzugt diese Krankheiten sind mit Hilfe eines erfindungsgemäßen enzym-gekoppelten Immuntests einfach, sicherer und effektiv  
25 detektierbar. Derartige Krankheiten, insbesondere die mit ihnen assoziierten Antikörper, konnten bisher nur mit komplizierten indirekten Tests, wie zum Beispiel Bioassays, nachgewiesen werden. So wurden beispielsweise Angiotensin II-AT1-Rezeptor-Autoantikörper, die beispielsweise mit der  
30 Präeklampsie assoziiert sind, bisher sicher nur durch das In-Kontakt-Bringen der jeweiligen Seren mit kultivierten

Kardiomyozyten, insbesondere neugeborener Ratten, über die Modifikation der Schlagfrequenz detektiert. Hierzu war es erforderlich, die Kardiomyozyten neugeborener Ratten zu kultivieren und diese mit dem Serum der Patienten in Kontakt zu bringen, wobei durch den Nachweis der Zunahme der Schläge pro Minute Antikörper gegen den AT1-Rezeptor bei Patienten mit Präeklampsie detektierbar waren. Mit dem erfindungsgemäßen Verfahren ist ein Immuntest zur Verfügung gestellt, mit dem zahlreiche Autoantikörper, die gegen G-Protein-gekoppelte Rezeptoren gerichtet sind, detektiert werden können. Bei diesen Autoantikörpern handelt es sich bevorzugt um einen gegen Betal-adrenergen-Rezeptor gerichteten Autoantikörper, einen gegen muskarinergen M2-Rezeptor gerichteten Autoantikörper, einen Angiotensin II AT1-Rezeptor-Autoantikörper, einen Alpha1-adrenergen-Rezeptor-Autoantikörper und Autoantikörper, die gegen Endothelin IA, PAR-1, PAR-2 und/oder PAR-3 gerichtet sind. Die Autoantikörper können insbesondere agonistisch wirkende Autoantikörper sein. Selbstverständlich können die Antikörper auch inhibitorische Antikörper sein, z.B. beim allergischen Asthma (Interaktion mit dem 3. Loop). Ein insbesondere Streptavidin-beschichteter Träger ist ein Träger der bevorzugt mit Streptavidin oder Avidin beschichtet ist. Besonders bevorzugt sind aus 6 bis 2, insbesondere 4 Untereinheiten bestehende Proteine  $M_R$  ca. 40000 bis 80000, insbesondere 60000 oder 66000, isoelektrischen Punkt nahe dem Neutralpunkt, wie z.B. Streptavidin oder Avidin, welche eine hohe Affinität (z.B.  $K_D = 10^{-15} \text{ M}^{-1}$ ) zu anderen, insbesondere durch Cholin inaktivierende Verbindungen, bevorzugt Biotin, zeigen. Dem Fachmann ist bekannt, dass ein insbesondere Streptavidin-

- beschichteter Träger vorteilhaft ist, wenn eine mit diesem wirkverbindbare Struktur mit Biotin oder einem Äquivalent assoziiert ist. Wird durch Versuche ermittelt, dass die Bindung auch ohne eine Biotin/Streptavidin/Avidin Assoziierung oder Bindung für den Nachweis ausreichend ist, muss das Peptid oder der Träger nicht mit diesen Hilfsstoffen (Biotin und Streptavidin/Avidin) verbunden werden.
- 10 Das Peptid ist im Sinne der Erfindung ein Molekül, welches im Wesentlichen aus Aminosäuren besteht. Peptide im Sinne der Erfindung sind auch Strukturen, die mehr als 50 bzw. 100 Aminosäuren umfassen und somit auch als Proteine bezeichnet werden können. Peptide und Proteine werden
- 15 demgemäss im Zusammenhang mit der Erfindung synonym verwendet. Selbstverständlich können die Peptide andere Strukturen wie Lipide oder Kohlenhydrate aber auch artifizielle oder natürliche Aminosäure- oder nicht-Aminosäurebausteine umfassen.
- 20 Das Biotin-umfassende Peptid oder Protein kann auch mit einem anderen Tag als Biotin kombiniert werden. Ein Tag im Sinne der Erfindung ist ein Protein-Anhängsel oder ein Peptid bzw. eine andere Struktur, die mit dem Peptid oder
- 25 Protein kombiniert, beispielsweise fusioniert, wird. Das Peptid kann - wie bereits ausgeführt - beispielsweise biotinyliert vorliegen und somit Biotin als Tag aufweisen. Dem Fachmann sind weitere Tag-Strukturen oder Tags aus Katalogen und Standardwerken der Biochemie bekannt.
- 30 Bevorzugte Tags sind His-Tag, Flag-Tag, Strep-Tag, T7-Tag (11 N-terminale Aminosäuren des T7Gen10-Proteins), S-Tag,



CBP (Calmodulin-Binde-Peptid), MBP (Maltose-Binde-Peptid),  
Neb, Protein A, GST-Tag, PinPoint-Tag, Thioredoxin, PET  
(Cellulose-Binde-Domäne), PMal (Maltose-Binde-Domäne)  
und/oder Biotin-Tag. Dieses Tag besitzt eine hohe Affinität  
5 zu einer anti-Tag Substanz oder einem anti-Tag an oder auf  
dem Träger. Bevorzugte anti-Tags sind Streptavidin-,  
Glutathion-, Biotin-, Nickel-NTA-, Cellulose-, Amylose-,  
Thiobond-, Avidin-, und/oder Immunglobulin. Dem Fachmann  
sind Tag/anti-Tag Paare bekannt, d.h. die Auswahl des Tags  
10 bestimmt die Struktur des anti-Tags, ohne dass eine  
erfinderische Auswahl durch einen Fachmann erforderlich ist  
oder dass dieser bei der Ausführung der erfindungsgemässen  
Lehre zunächst eine technische Aufgabe lösen muss. Wenn das  
Peptid biotinyliert vorliegt und somit Biotin als Tag  
15 aufweist, ist die anti-Tag-Struktur Streptavidin, d.h. ein  
mit Streptavidin beschichteter Träger. Weitere bevorzugte  
Tag/anti-Tag Paare sind: Protein A/ Immunglobulin, GST  
(Glutathion-S-Transferase)/ Glutathion, Pin-Point (in vivo  
Biotinylierung)/ Avidin, Thioredoxin/ Thiobond, PET  
20 (Cellulose-Binde-Domäne)/ Cellulose und/oder PMal (Maltose-  
Binde-Domäne)/ Amylose und andere. Bevorzugte  
anti-Tag-beschichtete Träger sind ausgewählt aus der Gruppe  
umfassend Streptavidin-, Glutathion-, Biotin-, Nickel-NTA-,  
Cellulose-, Amylose-, Thiobond-, Avidin- und/oder  
25 Immunglobulin-beschichtete Träger.  
Die loops im Sinne der Erfindung können extrazelluläre  
Strukturen sein, mit denen funktionelle, agonistische oder  
antagonistische Autoantikörper wechselwirken, diese  
erkennen oder binden.

In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung ist das denaturierende Agens Ammoniumsulfat. Selbstverständlich kann aber jedes wenig strukturverändernde Denaturierungsmittel verwendet werden, wie z.B. Alkohol bei  
5 der Alkoholfällung. Vorteilhafterweise ist es mit Ammoniumsulfat oder Alkohol möglich, Körperflüssigkeiten, wie beispielsweise Serum, zu fällen, insbesondere fraktioniert zu fällen. So können beispielsweise Antikörper, insbesondere Autoantikörper, von anderen  
10 Bestandteilen der Körperflüssigkeit separiert werden. Die Denaturierung der Körperflüssigkeit erfolgt hierbei insbesondere so, dass die abgetrennten Bestandteile mittels dem Fachmann bekannter Methoden wieder in einen im Wesentlichen nativen Zustand zurückgeführt werden können  
15 oder in einen Zustand, der ihre Detektion ermöglicht. Selbstverständlich ist jedes dem Fachmann bekannte denaturierende Agens, das von Ammoniumsulfat verschieden ist, oder ein anderes, die Struktur wenig veränderndes Denaturierungsmittel, zur Fällung von Körperflüssigkeiten  
20 geeignet.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist der Träger ein magnetisches Partikel oder eine ELISA-Platte bzw. eine andere Struktur, die zur Inkubation  
25 der Mixtur geeignet ist. Magnetische Partikel erlauben insbesondere die Abtrennung der gebundenen Mixtur mit Hilfe von Strom oder einer magnetischen Ladung. Eine Verwendung von ELISA-Platten ermöglicht bevorzugt den Einsatz von Laborroutinen oder standardisierten Geräten, da  
30 ELISA-Platten, insbesondere 96-well-Mikrotiterplatten, in

Klinik- und Grundlagenforschung als ein Standard eingesetzt werden.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung  
5 ist der Autoantikörper gegen einen Betal-adrenergen-Rezeptor, einen muskarinergen M2-Rezeptor, einen Angiotensin II AT1-Rezeptor, einen Alpha1-adrenergen-Rezeptor, einen Endothelin IA-Rezeptor, einen PAR-1, PAR-2 und/oder PAR-3 gerichtet. Bevorzugt handelt es sich bei den Rezeptoren um  
10 G-Protein-gekoppelte Rezeptoren.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung sind die gegen den Betal-adrenergen Rezeptor gerichteten Autoantikörper mit der dilatativen Kardiomyopathie,  
15 der Chagas' Kardiomyopathie oder der Myokarditis assoziiert, die gegen den muskarinergen M2-Rezeptor gerichteten Autoantikörper mit der dilatativen Kardiomyopathie oder der Chagas' Kardiomyopathie, die gegen den Angiotensin II AT1-Rezeptor gerichteten Autoantikörper mit der Präeklampsie,  
20 der humoralen Nierenabstoßung oder der malignen Hypertonie, die gegen den Alpha1-adrenergen-Rezeptor gerichteten Autoantikörper mit der essentiellen Hypertonie, der refraktären Hypertonie, der pulmonaren Hypertonie oder der Psoriasis und/oder die gegen Endothelin IA, PAR-1, PAR-2 und/oder  
25 PAR-3 gerichteten Autoantikörper sind mit dem Raynaud-Syndrom assoziiert. Vorteilhafterweise handelt es sich hierbei um Autoimmunerkrankungen, bei denen die krankheitsassoziierten Autoantikörper gegen bestimmte extrazelluläre Strukturen des G-Protein-gekoppelten  
30 Rezeptors gerichtet sind. Derartige Autoimmunerkrankungen sind mit bisherigen Mitteln der Laborroutine schwer oder

gar nicht diagnostizierbar und weiterhin können sie nur mit erheblichem, teils chirurgischem Aufwand - z.B. Herztransplantation oder Implantation von Herzunterstützungssystemen - behandelt werden, insbesondere dadurch,  
5 dass einzelne Gewebe, Organbereiche oder vollständige Organe durch Prothesen oder andere Organe, beispielsweise von lebenden oder toten Patienten, substituiert werden.

In einer ganz besonderen Ausführungsform der Erfindung wird  
10 bei der Detektion der dilatativen Kardiomyopathie, der Myokarditis, der essentiellen Hypertonie, der refraktären Hypertonie, der pulmonaren Hypertonie oder der Psoriasis eine Sequenz, bevorzugt das Peptid eingesetzt, welches eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten und/oder zweiten Loops  
15 des Rezeptors umfasst und bei der Chagas' Kardiomyopathie, der dilatativen Kardiomyopathie, der humoralen Nierenabstoßung und beim Raynaud-Syndrom wird das Peptid eingesetzt, das eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops des Rezeptors umfasst. Mit Vorteil ist es möglich,  
20 den ersten und/oder zweiten Loop bzw. nur den zweiten Loop bzw. Peptide, die Anteile bzw. Fragmente des ersten und/oder zweiten Loops bzw. nur des zweiten Loops umfassen, zur Detektion oder Therapie der genannten Krankheiten einzusetzen. Mit Vorteil sind dem Fachmann durch die Offen-  
25 barung des Zusammenhangs von Autoantikörper, Loop und der jeweiligen Autoimmunkrankheit verschiedene Möglichkeiten gegeben, die genannten Autoimmunkrankheiten zu diagnostizieren, prognostizieren, therapieren, sie nachzubehandeln bzw. im Verlauf einer Behandlung einer Verlaufskontrolle  
30 des jeweiligen Heilverfahrens zu unterziehen. Die Loops

bzw. die Peptide, die Teilbereiche der Loops umfassen, sind bevorzugt modifiziert.

Dem Fachmann ist bekannt, dass einzelne Aminosäuren analoge physikochemische Eigenschaften aufweisen, die mit Vorteil dazu führen, dass diese Aminosäuren untereinander ausgetauscht werden können. Hierzu gehören beispielsweise die Gruppe der Aminosäuren (a) Glycin, Alanin, Valin, Leucin und/oder Isoleucin; bzw. die Aminosäuren (b) Serin und Threonin, die Aminosäuren (c) Asparagin und Glutamin, die Aminosäuren (d) Asparaginsäure und Glutaminsäure; die Aminosäuren (e) Lysin und Arginin sowie die Gruppe der aromatischen Aminosäuren (f) Phenylalanin, Tyrosin und/oder Tryptophan. Aminosäuren innerhalb ein und derselben Gruppe (a-f) können untereinander ausgetauscht werden. Weiterhin ist es möglich, dass Aminosäuren durch modifizierte Aminosäuren oder spezifische Enantiomere ausgetauscht werden. Weitere Modifikationen sind gemäß der Lehre nach der WO99/62933 oder WO02/38592 möglich.

20

Im Stand der Technik sind verschiedene Möglichkeiten zur Herstellung von Peptiden offenbart. Peptide, die von den erfindungsgemäßen Peptiden ausgehend mit solchen Verfahren designt werden, sind von der erfindungsgemäßen Lehre mit erfasst. Eine Möglichkeit des Generierens von funktionsanalogen Peptiden ist beispielsweise in PNAS USA 1998, Oct. 13; 9521:12179-84, WO 99/6293 und/oder WO 02/38592 beschrieben; diese Lehren sind in den Offenbarungsgehalt der Erfindung mit aufgenommen. Das heißt, sämtliche Peptide, Peptidfragmente oder Strukturen, die Peptide umfassen, die mit dem genannten Verfahren - von den erfindungsgemäßen

30

Peptiden ausgehend - generiert wurden, sind Peptide im Sinne der Erfindung, sofern sie die erfindungsgemäße Aufgabe lösen, insbesondere mit den krankheitsverursachenden Autoantikörpern wechselwirken. Bei diesen Autoantikörpern kann  
5 es sich beispielsweise um agonistische Autoantikörper handeln, die Rezeptoren aktivieren oder um inhibitorische Antikörper..

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung  
10 ist es bevorzugt, dass

- die mit der dilatativen Kardiomyopathie assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten oder zweiten Loops des Betal-adrenergen Rezeptors in Kontakt gebracht werden,  
15
- die mit der Chagas' Kardiomyopathie assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops des Betal-adrenergen Rezeptors in Kontakt gebracht werden,
- 20 - die mit der Myokarditis assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten oder zweiten Loops des Betal-adrenergen Rezeptors in Kontakt gebracht werden,
- die mit der dilatativen Kardiomyopathie assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops des muskarinergen M2-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,  
25
- die mit der Chagas' Kardiomyopathie assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops des muskarinergen M2-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,  
30

- die mit der Präeklampsie assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops des Angiotensin II AT1-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,  
5
- die mit der humoralen Nierenabstoßung assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops des Angiotensin II AT1-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,
- 10 - die mit der malignen Hypertonie assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops des Angiotensin II AT1-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,
- die mit der essentiellen Hypertonie assoziierten  
15 Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten oder zweiten Loops des Alpha1-adrenergen-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,
- die mit der refraktären Hypertonie assoziierten  
20 Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten oder zweiten Loops des Alpha1-adrenergen-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,
- die mit der pulmonaren Hypertonie assoziierten Auto-  
25 antikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten und/oder zweiten Loops des Alpha1-adrenergen-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,
- die mit der Psoriasis assoziierten Autoantikörper  
30 mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten und/oder zweiten Loops des

Alphal-adrenergen-Rezeptors in Kontakt gebracht werden und/oder

- die mit dem Raynaud-Syndrom assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder  
5 Teilsequenz des zweiten Loops des Endothelin IA, PAR-1 und/oder PAR-2 in Kontakt gebracht werden.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung sind die IgG-Subklassen IgG1, IgG2, IgG3 und/oder IgG4  
10 Subklassen. Vorteilhafterweise werden spezifische Subklassen eingesetzt, um krankheitsassoziierte Autoantikörper einfach und effektiv zu detektieren. Hierdurch ist im Gegensatz zu den Verfahren ohne die Verwendung von spezifischen Subklassen eine einfache und sichere Detektion  
15 von Autoantikörpern durchführbar. Die Subklassen können überraschenderweise bestimmten Krankheitsbildern zugeordnet werden. Es ist demgemäß im Wesentlichen kein Gemisch von IG-Subklassen mit einem Krankheitsbild assoziiert, was dahingehend überraschend ist, da im Laufe der Generierung  
20 von Subklassen durch Switch und andere biochemische Mechanismen verschiedene Subklassen generiert werden.

In einer weiteren vorteilhaften Ausführungsform ist es bevorzugt, dass

- 25 - bei der dilatativen Kardiomyopathie die IgG3 und/oder IgG4 Subklassen verwendet werden, wenn das Peptid eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten Loops umfasst, und die IgG1 Subklasse, wenn das Peptid eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten  
30 Loops umfasst,



- bei der Chagas' Kardiomyopathie die IgG1, IgG2, IgG3 und/oder IgG4 Subklassen verwendet werden,
- bei der Myokarditis die IgG3 und/oder IgG4 Subklassen verwendet werden, wenn das Peptid eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten Loops umfasst und die IgG1 Subklasse, wenn das Peptid eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops umfasst;
- bei der Präeklampsie die IgG3 Subklasse verwendet wird,
- bei der humoralen Nierenabstoßung die IgG1 und IgG3 Subklassen verwendet werden,
- bei der malignen Hypertonie die IgG1 und/oder IgG3 Subklassen verwendet werden,
- bei der essentiellen Hypertonie die IgG1 und/oder IgG3 Subklassen verwendet werden, wenn das Peptid eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten Loops umfasst und die IgG2 Subklasse verwendet wird, wenn das Peptid eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops umfasst,
- bei der refraktären Hypertonie die IgG1 und/oder IgG3 Subklassen verwendet werden, wenn das Peptid eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten Loops umfasst und die IgG2 Subklasse verwendet wird, wenn das Peptid eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops umfasst,
- bei der pulmonaren Hypertonie die IgG1, IgG2 und/oder IgG3 Subklassen verwendet werden,
- bei der Psoriasis die IgG1, IgG2, IgG3 und/oder IgG4 Subklassen verwendet werden und/oder
- bei dem Raynaud-Syndrom die IgG1 Subklasse verwendet wird.

Mit Vorteil kann durch diese Ausgestaltungsform der Erfindung für eine spezifische Autoimmunkrankheit bzw. für die Autoantikörper eine IgG-Subklasse bzw. -Subklassen bereit-  
5 gestellt werden, mit denen Autoantikörper einfach und sicher detektiert werden können.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung werden die Autoantikörper vor dem Nachweis mit dem Fachmann  
10 bekannten Methoden aufkonzentriert oder gereinigt.

In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung umfasst das Verfahren zum Aufkonzentrieren oder Reinigen der Autoantikörper die folgenden Schritte:

- 15 a) Gewinnung einer IgG-Fraktion aus Körperflüssigkeit,
- b) In-Kontakt-Bringen der gewonnenen IgG-Fraktion mit einem Peptid, welches eine Teilsequenz eines ersten oder zweiten Loops eines G-Protein-gekoppelten Rezeptors umfasst, wobei eine Mixtur gewonnen wird,
- 20 c) Inkubation der Mixtur mit einem Träger, der gewaschen und konzentriert wird und
- d) Eluieren der Autoantikörper von dem aufkonzentrierten Träger.

25 Zweckmäßigerweise wird durch die Reinigung oder Aufkonzentrierung eine sehr sichere Diagnose oder Detektion der Autoantikörper möglich.

In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung ist das  
30 Peptid, welches die Sequenz bzw. eine Teilsequenz des

ersten und/oder zweiten Loops umfasst, ausgewählt aus der Gruppe umfassend:

EYGSFF, SFFCEL, ARRCYND, PKCCDF, AESDE, CYIQFF, EDGE CY,  
 5 VRTVEDGECYIQFFSNAAVTFGTAI, AFHYESQ, ENTNIT, FWA FGR,  
 GRAFCDV, ITEEAGY, ERFCGI, GRIFCD und/oder ITTCHDVL.

Insbesondere können diese Peptide wie folgt zugeordnet werden (siehe auch Tab. 3):

10

$\beta$ 1 DCM I loop EYGSFF, SFFCEL

$\beta$ 1 DCM II loop ARRCYND, PKCCDF

$\beta$ 1 Myokard. I loop ARRCYND, PKCCDF

$\beta$ 1 Myokard. II loop ARRCYND, PKCCDF

15  $\beta$ 1 Chagas II loop AESDE

musc. M2 DCM II loop CYIQFF, EDGE CY

musc. M2 Chagas II loop VRTVEDGECYIQFFSNAAVTFGTAI

AT1 Praekl. II loop AFHYESQ

AT1 humor.

20 Nierenabst. II loop ENTNIT, AFHYESQ

AT1 malign. Hyp II loop ENTNIT, AFHYESQ

$\alpha$ 1A essent. Hyp I loop FWA FGR, GRAFCDV

$\alpha$ 1A essent. Hyp II loop ITEEAGY und ERFCGI

$\alpha$ 1A pulm. Hyp I loop FWA FGR, GRAFCDV

25  $\alpha$ 1A pulm. Hyp II loop ITEEAGY und ERFCGI

$\alpha$ 1A refrakt. Hyp I loop FWA FGR, GRAFCDV

$\alpha$ 1A refrakt. Hyp II loop ITEEAGY und ERFCGI

$\alpha$ 1B Psoriasis I loop GRIFCD

$\alpha$ 1A Psoriasis I loop GRAFCDV

30 PAR-1 und PAR-2 II loop ITTCHDVL

Endothelin IA; Raynaud's Syn.

Es ist dem Fachmann selbstverständlich bekannt, dass er aufgrund der Offenbarung bestimmter Sequenzabschnitte des  
5 Loopes auch Sequenzen verwenden kann, die die genannten Sequenzen im natürlich vorkommenden loop flankieren. Weiterhin ist dem Fachmann bekannt, dass er die Sequenzen durch Deletionen, Substitutionen, Additionen, Insertionen oder andere biochemische bzw. biophysikalische Vorgänge so  
10 verändern kann, dass einzelne Parameter von ihnen - wie beispielsweise ihre Wirkung als diagnostisches oder therapeutisches Mittel - verbessert werden können.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung  
15 ist insbesondere das Peptid immobilisiert. Im Sinne der Erfindung werden unter Immobilisierung verschiedene Verfahren und Techniken zum Fixieren der Peptide auf bestimmten Trägern verstanden. Die Immobilisierung kann beispielsweise der Stabilisierung der Peptide dienen, wodurch diese ins-  
20 besondere bei Lagerung oder bei einmaligem Batch-Ansatz durch biologische, chemische oder physikalische Einwirkungen in ihrer Aktivität nicht reduziert oder nachteilig modifiziert werden. Durch die Immobilisierung der Peptide ist ein wiederholter Einsatz unter technischen oder  
25 klinischen Routine-Bedingungen möglich; weiterhin kann eine Probe - bevorzugt Blutbestandteile - mit mindestens einem der erfindungsgemäßen Peptide kontinuierlich umgesetzt werden. Dies kann insbesondere durch verschiedene Immobilisierungstechniken erreicht werden, wobei die Bindung der  
30 Peptide an andere Peptide oder Moleküle bzw. an einen Träger so erfolgt, dass die dreidimensionale Struktur,

insbesondere an dem Zentrum, das die Wechselwirkung mit den Autoantikörpern vermittelt, der entsprechenden Moleküle, insbesondere der Peptide, nicht verändert wird. Vorteilhafterweise geht die Spezifität zu den Autoantikörpern der Patienten durch die Immobilisierung nicht verloren. Im Sinne der Erfindung können drei grundsätzliche Methoden zur Immobilisierung verwendet werden:

(i) Quervernetzung: Bei der Quervernetzung werden die Peptide miteinander fixiert, ohne dass ihre Aktivität nachteilig beeinflusst wird. Sie sind vorteilhafterweise durch die Quervernetzung nicht mehr löslich.

(ii) Bindung an einen Träger: Die Bindung an einen Träger erfolgt zum Beispiel durch Adsorption, Ionenbindung oder kovalente Bindung. Dies kann auch innerhalb von mikrobiellen Zellen bzw. Liposomen oder anderen membranhaltigen geschlossenen bzw. offenen Strukturen erfolgen. Die Peptide werden durch die Fixierung vorteilhafterweise nicht in ihrer Aktivität beeinflusst. Die Peptide können mit Vorteil zum Beispiel in der Klinik in Diagnose oder Therapie trägegebunden mehrfach oder kontinuierlich eingesetzt werden.

(iii) Einschluss: Der Einschluss erfolgt im Sinne der Erfindung insbesondere an eine semipermeable Membran in Form von Gelen, Fibrillen oder Fasern. Gekapselte Peptide sind durch eine semipermeable Membran so durch die umgebende Probenlösung getrennt, dass sie vorteilhafterweise noch mit den Autoantikörpern oder mit Fragmenten dieser interagieren können. Für die Immobilisierung stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung, wie beispielsweise die Adsorption

an einen inerten oder elektrisch geladenen anorganischen oder organischen Träger. Solche Träger können beispielsweise poröse Gele, Aluminiumoxid, Betonid, Agarose, Stärke, Nylon oder Polyacrylamid sein. Die Immobilisierung erfolgt  
5 hierbei durch physikalische Bindungskräfte, oft unter Beteiligung von hydrophoben Wechselwirkungen und ionischen Bindungen. Derartige Methoden sind vorteilhafterweise einfach zu handhaben und sie beeinflussen die Konformation der Peptide nur in geringem Umfang. Durch elektrostatische  
10 Bindungskräfte zwischen den geladenen Gruppen der Peptide und dem Träger kann die Bindung vorteilhafterweise verbessert werden, zum Beispiel durch die Verwendung von Ionenaustauschern, insbesondere Sephadex.

15 Ein weiteres Verfahren ist die kovalente Bindung an Trägermaterialien. Die Träger können dazu reaktive Gruppen aufweisen, die mit Aminosäure-Seitenketten homöopolare Bindungen eingehen. Geeignete Gruppen in Peptiden sind Carboxy-, Hydroxy- und Sulfidgruppen und insbesondere die  
20 endständigen Aminogruppen von Lysinen. Aromatische Gruppen bieten die Möglichkeit für Diazo-Kopplungen. Die Oberfläche von mikroskopischen porösen Glaspartikeln kann durch Behandlung mit Silanen aktiviert und anschließend mit Peptiden umgesetzt werden. Hydroxy-Gruppen natürlicher Poly-  
25 mere können zum Beispiel mit Bromzyan aktiviert und anschließend mit Peptiden gekoppelt werden. Mit Polyacrylamid-Harzen können zahlreiche Peptide vorteilhafterweise direkte kovalente Bindungen eingehen. Bei dem Einschluss in dreidimensionale Netzwerke werden die Peptide in ionotrophe  
30 Gele oder andere dem Fachmann bekannte Strukturen eingeschlossen. Die Poren der Matrix sind insbesondere so be-

schaffen, dass die Peptide zurückgehalten werden und eine Interaktion mit den Ziel-Molekülen möglich ist. Bei der Quervernetzung werden die Peptide durch Vernetzung mit bifunktionellen Agenzien in polymere Aggregate umgewandelt.

5 Derartige Strukturen sind gelatinös und leicht verformbar und insbesondere für den Einsatz in verschiedenen Reaktoren geeignet. Durch Zugabe anderer inaktiver Komponenten, wie zum Beispiel Gelatine, bei der Vernetzung können die mechanischen und Bindungseigenschaften vorteilhafterweise

10 verbessert werden. Bei der Mikroverkapselung wird der Reaktionsraum der Peptide mit Hilfe von Membranen eingegrenzt. Die Mikroverkapselung kann zum Beispiel als Grenzflächen-Polymerisation durchgeführt werden. Durch die Immobilisierung bei der Mikroverkapselung werden die

15 Peptide unlöslich und dadurch wieder verwendbar. Im Sinne der Erfindung sind immobilisierte Peptide alle Peptide, die sich in einem Zustand befinden, der ihre Wiederverwendung erlaubt. Die Einschränkung der Beweglichkeit und der Löslichkeit der Peptide auf chemischem, biologischem oder

20 physikalischem Wege führt vorteilhafterweise zu niedrigen Verfahrenskosten, insbesondere bei der Eliminierung von Autoantikörpern aus Blutbestandteilen.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung

25 ist das Peptid an eine Festphase gebunden. Die Bindung des Peptides an die Festphase kann über einen Spacer erfolgen. Als Spacer können alle chemischen Verbindungen eingesetzt werden, die für die Funktion des Spacers die geeigneten strukturellen und funktionellen Voraussetzungen aufweisen,

30 solange sie nicht das Bindeverhalten derart modifizieren,

dass eine Bindung des Autoantikörpers mit dem Peptid nachteilhafterweise beeinträchtigt wird.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung umfasst das Peptid Aminogruppen, Amide, Acetylgruppen, Biotingruppen, Marker, Spacer, Linker, GKK und/oder SGKK. Derartige Strukturen erlauben vorteilhafterweise eine Verwendung der Peptide in der Apheresetherapie.

10 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung umfasst der Linker und/oder der Spacer  $\alpha$ -Aminocarbonsäuren sowie deren Homo- und Heterooligomere;  $\alpha,\omega$ -Aminocarbonsäuren sowie deren verzweigte Homo- oder Heterooligomere; sonstige Aminosäuren sowie die linearen  
15 und verzweigten Homo- oder Heterooligomere; Amino-oligoalkoxy-alkylamine; Maleinimidocarbonsäure-Derivate; Oligomere von Alkylaminen; 4-Alkylphenyl-Derivate; 4-Oligoalkoxyphenyl- oder 4-Oligoalkoxyphenoxy-Derivate; 4-Oligoalkylmercaptophenyl- oder 4-Oligoalkylmercapto-  
20 phenoxy-Derivate; 4-Oligoalkylaminphenyl- oder 4-Oligoalkylaminophenoxy-Derivate; (Oligoalkylbenzyl)-phenyl- oder 4-Oligoalkylbenzyl)-phenoxy-Derivate sowie 4-Oligoalkoxybenzyl)-phenyl- oder 4-Oligoalkoxybenzyl)-phenoxy-Derivate; Trityl-Derivate; Benzyloxyaryl- oder Benzyloxyalkyl-Derivate; Xanthen-3-yl-oxyalkyl-Derivate; (4-Alkylphenyl)- oder  
25  $\omega$ -(4-Alkylphenoxy)-alkansäure-Derivate; Oligoalkyl-Phenoxyalkyl- oder Oligoalkoxy-phenoxyalkyl-Derivate; Carbamat-Derivate; Amine; Trialkylsilyl- oder Dialkyl-alkoxysilyl-Derivate; Alkyl- oder Aryl-Derivate und/oder Kombinationen  
30 davon.



In einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung sind die immobilisierten Peptide durch Deletion, Addition, Substitution, Translokation, Inversion und/oder Insertion modifiziert.

5

Die Erfindung betrifft auch ein Peptid ausgewählt aus der Gruppe umfassend EYGSFF und/oder SFFCEL (DCM, 1. loop); ARRCYND und/oder PKCCDF (DCM, 2. loop); AESDE (Chagas, 2. loop), CYIQFF und/oder EDGE CY (DCM, 2. loop);  
10 VRTVEDGECYIQFFSNAAVTFGTAI (Chagas, 2. loop), AFHYESQ (Präeklampsie, 2. loop), ENTNIT und/oder AFHYESQ (humorale Nienabstossung, maligne Hypertonie, 2. loop); FWAFFGR und/oder GRAFCDV (essentielle Hypertonie, 1. loop), ITEEAGY und/oder ERFCGI (essentielle Hypertonie, 2. loop),  
15 GRIFCD, GRAFCDV (Psoriasis, 1. loop) und/oder ITTCHDVL zur Verwendung als medizinischer Wirkstoff. Bei der pulmonaren und refraktären Hypertonie gelten zum 1. und 2. loop die Ausführungen zur essentiellen Hypertonie. Die Verwendung als therapeutischer Wirkstoff meint im Sinne der Erfindung  
20 die Anwendung des Peptids bzw. der Peptide auf dem gesamten Gebiet der Medizin, bevorzugt zur Diagnose und Therapie von Autoimmunkrankheiten.

Dem Fachmann ist bekannt, dass er aufgrund der offenbarten  
25 Peptide als Diagnose- und/oder Therapiemittel weitere funktionsanaloge Peptide generieren kann. Diese funktionsanalogen Peptide sind durch die erfindungsgemäße Lehre mit erfasst. Insbesondere ist auf die Dissertationen PNAS USA 1998, Oct. 13; 9521:12179-84, WO 99/6293 und/oder  
30 WO 02/38592 hingewiesen, die in den Offenbarungsgehalt der erfindungsgemäßen Lehre mit aufgenommen sind.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung wird das Peptid von Autoantikörpern von Patienten mit einer der folgenden Krankheiten gebunden: dilatative Kardiomyopathie, Chagas' Kardiomyopathie, Myokarditis, Präeklampsie, humorale Nierenabstoßung, maligne Hypertonie, essentielle Hypertonie, refraktäre Hypertonie, pulmonare Hypertonie, Psoriasis und/oder Raynaud-Syndrom. Der Fachmann kann aus dieser Offenbarung durch Routineversuche Diagnose- und Therapieverfahren bereitstellen.

Die Erfindung betrifft auch Erkennungsmoleküle, die gegen das erfindungsgemäße Peptid gerichtet sind. Bevorzugt sind die Erkennungsmoleküle Antikörper, Antisense-Konstrukte und/oder ein Chelatoren. Die erfindungsgemäßen Erkennungsmoleküle können Antikörper sein, die gegen Autoantikörper gerichtet sind, die insbesondere folgende Krankheiten induzieren: die dilatative Kardiomyopathie, die Chagas' Kardiomyopathie, die Myokarditis, die Präeklampsie, die humorale Nierenabstoßung, die maligne Hypertonie, die essentielle Hypertonie, die refraktäre Hypertonie, die pulmonare Hypertonie, die Psoriasis und/oder das Raynaud-Syndrom.

Die Erfindung betrifft auch eine pharmazeutische Zusammensetzung, die die Peptide und/oder die Erkennungsmoleküle gegebenenfalls mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger umfasst. Die pharmazeutische Zusammensetzung kann insbesondere als Arzneimittel eingesetzt werden. Hierzu ist es beispielsweise möglich, die Peptide durch Zyklisierung oder andere dem Fachmann bekannte Verfahren so zu modifizieren, dass sie durch körpereigene peptidabbauende

Strukturen, wie zum Beispiel Serumproteasen, nicht zerstört werden können. Durch Verwendung der erfindungsgemäßen Peptide oder Erkennungsmoleküle ist es möglich, die Autoantikörper in oder ex vivo bzw. in vitro zu neutralisieren.

5 Eine in-vitro Neutralisation ist beispielsweise bei der Untersuchung von Autoimmunerkrankungen in Gewebe- oder Zellkulturen vorteilhaft. Bei einer in vivo Neutralisation werden die Arzneimittel dem Patienten direkt verabreicht, bei einer ex vivo Neutralisation wird beispielsweise das

10 Blut über eine Schleife - zum Beispiel in Form eines Schlauch-Kreislaufes - aus dem Körper geleitet, folgend mit dem Arzneimittel in Kontakt gebracht und nach der erfolgten Neutralisation der Autoantikörper wieder in den Organismus, insbesondere dem humanen Patienten, zurückgeführt. Im Sinne

15 der Erfindung gelten als Arzneimittel sowohl solche pharmazeutischen Zusammensetzungen, die für die therapeutischen und prophylaktischen Zwecke verwendet werden als auch solche pharmazeutischen Zusammensetzungen, die als Diagnostikum eingesetzt werden können.

20

Arzneimittel oder pharmazeutische Zusammensetzungen, die vorliegend synonym verwendet werden, sind erfindungsgemäß Stoffe und Zubereitungen aus Stoffen, die dazu bestimmt sind, durch Anwendung am oder im menschlichen Körper

25 Krankheiten, Leiden, Körperschäden oder krankhafte Beschwerden zu heilen, zu lindern oder zu verhüten. Medizinische Hilfsstoffe sind erfindungsgemäß solche Stoffe, die zur Produktion als aktive Ingredienzien von Arzneimitteln eingesetzt werden. Pharmazeutisch-technische Hilfsstoffe

30 dienen der geeigneten Formulierung des Arzneimittels oder der pharmazeutischen Zusammensetzung und können sogar,

sofern sie nur während des Herstellungsverfahrens benötigt werden, anschließend entfernt werden oder können als pharmazeutisch verträgliche Träger Teil der pharmazeutischen Zusammensetzung sein. Die Arzneimittelformulierung oder Formulierung der pharmazeutischen Zusammensetzung erfolgt gegebenenfalls in Kombination mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger und/oder Verdünnungsmittel. Beispiele für geeignete pharmazeutisch verträgliche Träger sind dem Fachmann bekannt und umfassen zum Beispiel Phosphat-gepufferte Kochsalzlösungen, Wasser, Emulsionen wie zum Beispiel Öl/Wasser-Emulsionen, verschiedene Arten von Detergenzien, sterile Lösungen etc., Arzneimittel oder pharmazeutische Zusammensetzungen, die solche Träger umfassen, können mittels bekannter konventioneller Methoden formuliert werden. Diese Arzneimittel oder pharmazeutischen Zusammensetzungen können einem Individuum in einer geeigneten Dosis verabreicht werden, beispielsweise in einem Bereich von 1  $\mu$ g bis 10 g an Peptiden pro Tag und Patient. Bevorzugt werden dabei Dosen von 1 mg bis 1 g. Bevorzugt wird eine Verabreichung von möglichst wenigen und niedrigen Dosen und weiter bevorzugt eine einmalige Dosis. Die Verabreichung kann auf verschiedenen Wegen erfolgen, beispielsweise intravenös, intraperitoneal, intrarektal, intragastrointestinal, intranodal, intramuskulär, lokal, aber auch subkutan, intradermal oder auf der Haut oder über die Schleimhäute. Die Verabreichung von Nukleinsäuren, die für das erfindungsgemäße Peptid codieren, kann auch in Form von Gen-Therapien geschehen, beispielsweise über virale Vektoren. Die Art der Dosierung und des Verabreichungsweges kann vom behandelnden Arzt entsprechend den klinischen Faktoren bestimmt werden. Es ist dem Fachmann bekannt, dass

die Art der Dosierung von verschiedenen Faktoren abhängig ist, wie zum Beispiel der Größe, der Körperoberfläche, dem Alter, dem Geschlecht oder der allgemeinen Gesundheit des Patienten, aber auch von dem speziellen Mittel, welches  
5 verabreicht wird, der Dauer und Art der Verabreichung und von anderen Medikamenten, die möglicherweise parallel verabreicht werden. Der Fachmann kann sich hierbei an den üblichen Standardwerten sowie an speziellen Lehren orientieren, zum Beispiel an der Lehre der EP 1 085 955, die in  
10 den Offenbarungsgehalt der Erfindung mit aufgenommen ist. Weiterhin ist dem Fachmann bekannt, dass er die Konzentration der Autoantikörper mit den erfindungsgemäßen Peptiden zunächst diagnostizieren kann, um die notwendige Konzentration des Arzneimittels zu bestimmen.

15

Die pharmazeutischen Zusammensetzungen oder das Arzneimittel umfassen insbesondere eine pharmakologische Substanz, die ein oder mehrere erfindungsgemäße Peptide oder Erkennungsmoleküle oder/und diese codierende Nukleinsäuremoleküle in einer geeigneten Lösung oder Verabreichungsform  
20 enthält. Diese können entweder alleine mit den entsprechenden unter Arzneimitteln oder pharmazeutischen Zusammensetzungen beschriebenen Hilfsstoffen oder in Kombination mit einem oder mehreren Adjuvantien, beispielsweise QS-21, GPI-0100 oder andere Saponine, Wasser-Öl Emulsionen wie  
25 beispielsweise Montanide, Adjuvantien, Polylysin, Polyargininverbindungen, DNA-Verbindungen wie beispielsweise CpG, Detox, bakterielle Vakzine wie beispielsweise Thyphusvakzine oder BCG-Vakzine, Salze wie beispielsweise Kalziumphosphate und/oder einem anderen geeigneten Stoff zur  
30 Wirkungsverstärkung verabreicht werden; vorzugsweise immun-

stimulatorische Moleküle, wie Interleukine, beispielsweise IL-2, IL-12, IL-4 und/oder Wachstumsfaktoren, beispielsweise GM-CSF. Diese werden in bekannten Methoden mit den erfindungsgemäßen Peptiden oder Erkennungsmolekülen gemischt und in einer geeigneten Formulierung und Dosierung verabreicht. Formulierungen, Dosierungen und geeignete Komponenten sind dem Fachmann bekannt.

Die pharmazeutische Zusammensetzung oder das Arzneimittel können selbstverständlich auch eine Kombination von zwei oder mehreren der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen oder Arzneimittel sein, sowie eine Kombination mit anderen Arzneimitteln, wie beispielsweise Antikörpertherapien, Chemotherapien oder Radiotherapien, die auf eine geeignete Weise zeitlich gemeinsam oder getrennt verabreicht bzw. angewandt werden. Die Herstellung der Arzneimittel oder pharmazeutischen Zusammensetzungen erfolgt nach an sich bekannten Methoden.

Die Erfindung betrifft auch einen Kit, der das erfindungsgemäße Peptid, die erfindungsgemäßen Erkennungsmoleküle und/oder die erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung umfasst, gegebenenfalls mit einer Anweisung zum Kombinieren der Inhalte des Kits und/oder zum Bereitstellen einer Formulierung für einen Empfänger und einem Algorithmus der Gabe der Formulierung, das heißt in welcher Dosis oder in welchen Zeitintervallen einem Patienten einzelne Bestandteile des Kits verabreicht werden. Der Empfänger im Sinne der Erfindung kann jedoch auch eine Zelle oder ein Gewebe in vivo, ex vivo oder in vitro sein. Bei der Information kann es sich beispielsweise um einen

Beipackzettel, aber auch um eine Information handeln, die der Anwender fernmündlich oder über Internet abrufen kann. Der Algorithmus der Gabe der Formulierung beinhaltet insbesondere eine Anleitung zum diagnostischen und/oder therapeutischen Verfahren zur Behandlung eines Patienten. Hierbei kann es sich um einstufige als auch mehrstufige Verfahren handeln, als auch um solche, die in Ab- oder Anwesenheit eines Arztes durchgeführt werden. Das heißt, das Therapieschema bzw. die Information über dieses sind bevorzugt ein Bestandteil des Kits.

Die Erfindung betrifft auch eine Vorrichtung zur Chromatographie, die die erfindungsgemäßen Peptide umfasst.

In einer bevorzugten Ausführungsform sind die Peptide innerhalb des Chromatographiesystems beispielsweise an einer Festphase gebunden.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung kann insbesondere dazu verwendet werden, die Autoantikörper aus Flüssigkeiten eines Patienten zu eliminieren bzw. die Autoantikörper zu neutralisieren. Dieses Verfahren ist dem Fachmann unter dem Begriff der Immunadsorption oder Apheresetherapie bekannt. Mit Hilfe der Immunadsorption werden Immunglobuline aus dem Blut des Patienten entfernt. Vorteilhafterweise kann diese Immunadsorptionsbehandlung stationär und ambulant durchgeführt werden. Es kann vorgesehen sein, dass die Vorrichtung, insbesondere der so genannte Adsorber, Bestandteil eines extrakorporalen Blutkreislaufes ist. Hierbei wird dem Patienten aus einem größeren Körpergefäß, insbesondere einer Armvene, kontinuierlich bzw. diskontinuierlich Blut

entnommen und mittels Filtration oder Zentrifugation in einzelne Bestandteile, wie beispielsweise die zellulären und die humoralen Bestandteile, separiert. Ein wesentlicher Bestandteil des Blutes, das hierdurch gewonnen wird, ist insbesondere Blutplasma. Das Blutplasma kann vorteilhafterweise durch die erfindungsgemäße Vorrichtung geleitet und nach Adsorption der Autoantikörper zusammen mit den zuvor separierten Blutbestandteilen, insbesondere den zellulären Bestandteilen, dem Patienten zurückgegeben werden, insbesondere durch eine andere Arm- bzw. Beinvene. Es kann weiterhin vorgesehen sein, dass die Peptide an einer Sepharose-Matrix immobilisiert sind. Diese Matrix kann in einen Behälter gegeben werden, der ein Volumen von 10 bis 400 ml aufweist. Das Blutplasma des Patienten kann dann über diese Matrix geleitet werden, wobei die Autoantikörper binden und so aus dem Blutplasma eliminiert werden können. Dem Fachmann sind verschiedene Möglichkeiten bekannt, derartige festphasenfixierte Peptide bereitzustellen, beispielsweise in Form von (i) regenerationsfähigen Adsorptionssäulen, in Form von (ii) Doppelsäulen als auch in Form von (iii) Einmalsäulen. Die verschiedenen Spül- und Elutionslösungen, die eine hohe Effizienz der Behandlung ermöglichen, können durch den Fachmann problemlos durch Routineversuche ermittelt werden. Durch die Bereitstellung der erfindungsgemäßen Lehre, insbesondere der erfindungsgemäßen Peptide, sind dem Fachmann verschiedene Möglichkeiten offenbart, diese in vivo, ex vivo und in vitro, zur Prophylaxe, Diagnose, Therapie als auch zur Nachbehandlung der dilatativen Kardiomyopathie, der Chagas' Kardiomyopathie, der Myokarditis, der Präeklampsie, der humoralen Nierenabstoßung, der malignen Hypertonie, der essentiellen



Hypertonie, der refraktären Hypertonie, der pulmonaren Hypertonie, der Psoriasis und/oder des Raynaud-Syndroms einzusetzen. Dem Fachmann sind weitere Ausgestaltungen aus der WO 02/38592, der EP 1 214 350 und der WO 99/56126  
5 bekannt, die in den Offenbarungsgehalt der erfindungsgemäßen Lehre mit aufgenommen sind.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung der erfindungsgemäßen Peptide, der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung, des erfindungsgemäßen Kits und/oder  
10 der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Prophylaxe, Diagnose, Therapie, Verlaufskontrolle und/oder Nachbehandlung von Autoimmunkrankheiten ausgewählt aus der Gruppe umfassend die dilatative Kardiomyopathie, die Chagas' Kardiomyopathie, die Myokarditis, die Präeklampsie, die humorale  
15 Nierenabstoßung, die maligne Hypertonie, die essentielle Hypertonie, die refraktäre Hypertonie, die pulmonare Hypertonie, die Psoriasis und/oder das Raynaud-Syndrom.

20 Die Erfindung betrifft auch die Verwendung der erfindungsgemäßen Peptide, der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung, des erfindungsgemäßen Kits und/oder der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Autoimmunkrankheiten aus-  
25 gewählt aus der Gruppe umfassend die dilatative Kardiomyopathie, die Chagas' Kardiomyopathie, die Myokarditis, die Präeklampsie, die humorale Nierenabstoßung, die maligne Hypertonie, die essentielle Hypertonie, die refraktäre Hypertonie, die pulmonare Hypertonie, die Psoriasis  
30 und/oder das Raynaud-Syndrom.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung der erfindungsgemäßen Peptide, der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung, des erfindungsgemäßen Kits und/oder der erfindungsgemäßen Vorrichtung zum Screenen von Arzneimitteln. Das Screenen von Arzneimitteln kann beispielsweise die Identifizierung von Substanzen, insbesondere Peptiden, Proteinen, Kohlenhydraten und/oder Lipiden umfassen, die mit den Peptiden wechselwirken. Eine Wechselwirkung kann beispielsweise eine Bindung an diese Peptide sein oder aber auch eine Aktivierung bzw. Inhibierung von oder durch die genannten Peptide. Ein Arzneimittel könnte demgemäß beispielsweise eine Struktur sein, die im Körper eines Patienten an die Peptide, und dementsprechend an die entsprechenden Loops bindet und so mit den dort vorkommenden Autoantikörpern um eine Bindungsstelle konkurriert. Durch die Offenbarung der erfindungsgemäßen Lehre, insbesondere über die Offenbarung des Zusammenhangs von Krankheit und dem Bindungsort der Autoantikörper, kann der Fachmann verschiedene Arzneimittel screenen. Das Screenen von Arzneimitteln aufgrund von offenbarten Targets gehört zum allgemeinen Wissen des Fachmanns und erfolgt durch Routineversuche, es sei auf die entsprechenden Standardwerke der Molekularbiologie und Pharmakologie verwiesen.

Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Behandlung einer Autoimmunkrankheit ausgewählt aus der Gruppe umfassend die dilatative Kardiomyopathie, die Chagas-Kardiomyopathie, die Myokarditis, die Präeklampsie, die humorale Nierenabstoßung, die maligne Hypertonie, die essentielle Hypertonie, die refraktäre Hypertonie, die pulmonare Hypertonie, die Psoriasis, das Raynaud-Syndrom durch eine

Bindung und/oder Entfernung von Autoantikörpern mittels von an eine Festphase gebundenen erfindungsgemäßen Peptiden. Durch die an die Festphase gebundenen Peptide werden die Autoantikörper gebunden, komplexiert und/oder an der  
5 Festphase neutralisiert.

In einer besonderen Ausführungsform des Behandlungsverfahrens ist bevorzugt, dass die Autoantikörper bei der dilatativen Kardiomyopathie gegen Betal-adrenerge Rezeptoren, bei der Chagas' Kardiomyopathie gegen Betal-adrenerge Rezeptoren, bei der Myokarditis gegen Betal-adrenerge Rezeptoren, bei der dilatativen Kardiomyopathie gegen muskarinerge M2-Rezeptoren, bei der Chagas' Kardiomyopathie gegen muskarinerge M2-Rezeptoren, bei der  
15 Präeklampsie gegen Angiotensin II AT1-Rezeptoren, bei der humoralen Nierenabstoßung gegen Angiotensin II AT1-Rezeptoren, bei der malignen Hypertonie gegen Angiotensin II AT1-Rezeptoren, bei der essentiellen Hypertonie gegen Alpha1-adrenerge-Rezeptoren, bei der refraktären Hypertonie  
20 gegen Alpha1-adrenerge-Rezeptoren, bei der pulmonaren Hypertonie gegen Alpha1-adrenerge-Rezeptoren, bei der Psoriasis gegen Alpha1-adrenerge-Rezeptoren, die Autoantikörper bei dem Raynaud-Syndrom gegen Endothelin 1A, PAR-1 und/oder PAR-2 gerichtet sind.

25

Im Folgenden soll die Erfindung anhand eines Beispiels näher erläutert werden, ohne auf dieses Beispiel beschränkt zu sein.

### Beispiel

#### **Bestimmung von Angiotensin II-AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Autoantikörpern**

- 5 Spontan schlagende, kultivierte Kardiomyozyten neugeborener Ratten sind ein sehr nützliches Modell für die Untersuchung der Wirkung von Autoantikörpern.

Über Forschungen an  $\beta_1$ -Adrenorezeptor-Autoantikörpern wurde  
10 bereits von Wallukat et al., 2001, berichtet. Dieser Bericht handelt von Angiotensin II-AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Autoantikörpern bei präeklampsischen Frauen. Präeklampsie ist eine Störung, die sich durch eine Zunahme des Blutdrucks zu erkennen gibt, der zum Tod von Mutter und Fötus führen  
15 kann. Dechend et al., 2000, waren in der Lage, die Manifestation agonistischer Antikörper gegen Angiotensin AT<sub>1</sub>-Rezeptoren aufzuzeigen, die bei präeklampsischen Frauen häufig auftreten. Mit der Aktivierung des AT<sub>1</sub>-Rezeptors durch agonistische Autoantikörper ließen sich viele der  
20 pathophysiologischen Merkmale der Präeklampsie erklären. Die Befunde von Wallukat et al., 1999, zeigen, dass Immunglobulin-Fraktionen und affinitätsgereinigte Antikörper von präeklampsischen Frauen den AT<sub>1</sub>-Rezeptor von kultivierten Kardiomyozyten stimulieren können. Durch Zu-  
25 gabe von Losartan (1  $\mu$ M) verringern sich die Schläge pro Minute. Durch Neutralisationsexperimente konnte gezeigt werden, dass die IgG-Unterklasse 3 für die Zunahme der Schlagfrequenz verantwortlich ist.

Gemäß diesen Befunden wurde ein enzymgekoppelter Immunttest zur Bestimmung von Angiotensin II-AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Autoantikörpern (Anti-AT<sub>1</sub>-AAB) entwickelt.

- 5   Erstens: Peptid-Lösungen, entsprechend der Aminosäuresequenz der zweiten Schleife des menschlichen AT<sub>1</sub>-Rezeptors (Sm 1986/1, 100 µg/ml), wurden mit Anti-AT<sub>1</sub>-AAB (1:1; Vol./Vol.) 1 Stunde lang bei 4 °C inkubiert. Anti-AT<sub>1</sub>-AABs wurden hergestellt durch Ammoniumsulfat-Fällung aus Abfallflüssigkeiten bei der Geburt (Blut und isotonische Salzlösung). Diese Proben waren stärker konzentriert als Reins
- 10   serumproben.

- 15   Zweitens: Diese Mischung wurde mit gewaschenen Streptavidin-beschichteten magnetischen Teilchen 1 Stunde lang bei 4 °C inkubiert.

- 20   Drittens: Zur Abtrennung der IgG/Peptid-Mischung wurden die magnetischen Teilchen dreimal mit Waschpuffer gewaschen (20 mM Kaliumphosphat-Puffer, 0,15 M NaCl, pH 7,5). Das Abtrennen oder Waschen kann ohne weiteres mit einem Magnet-Konzentrationsapparat (Dynal) durchgeführt werden. Unspezifische Bindungsstellen wurden mit 1 % Rinderserumalbumin in Waschpuffer blockiert.

- 25   Viertens: Die magnetischen Teilchen wurden mit einer Lösung von Meerettichperoxidase-markierten Antikörpern gegen menschliches IgG3 inkubiert (1:200, 1 Stunde, Raumtemperatur).

Fünftens: Die Teilchen wurden mit einer standardisierten gebrauchsfertigen Lösung von TMB (Tetramethylbenzidin) 30 min lang bei Raumtemperatur im Dunkeln behandelt. Die Farbreaktionen (blau-grün) wurden mit 0,1 N HCl gestoppt  
5 (gelb-orange). Die optischen Dichten wurden in einem Mikroplatten-Lesegerät (Anthos HTII) bei 492 nm (Bezugsfilter 620 nm) gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

10 Das gleiche Peptid des menschlichen  $AT_1$ -Rezeptors (Sm 1986/1) wurde zur Reinigung von Anti- $AT_1$ -AABs verwendet. IgG-Lösungen wurden mit Peptid-Lösung (100 µg/ml, 1:1; Vol./Vol.) gemischt und eine Stunde lang bei 4 °C inkubiert. Die dreimal gewaschenen, Streptavidin-beschich-  
15 teten magnetischen Teilchen wurden zugegeben (300 µl). Die Teilchen wurden mit dem Magnet-Konzentrationsapparat eingesammelt. Die Überstände wurden vorsichtig abgetrennt und in Eis gelagert. Die magnetischen Teilchen wurden dreimal gewaschen und mit 3 M Kaliumthiocyanat-Lösung 15 min lang  
20 bei Raumtemperatur eluiert. Nach magnetischer Aufkonzentrierung wurden die Lösungen vorsichtig abgetrennt und zusammen mit dem ersten Überstand gegen NaCl (0,9 %) in Phosphat-gepufferter Lösung dialysiert. Nach 5-maligem Austausch innerhalb von 3 Tagen wurde der Proteingehalt anhand  
25 der optischen Dichte bestimmt (280 nm). Die chronotrope Wirkung von Überstand und Eluat auf primäre kultivierte Kardiomyozyten neugeborener Ratten (Bioassay) wurde mit einem bildgebenden Computersystem (IMAGOQANT) aufgezeichnet.

Tabelle 2 zeigt die Reproduzierbarkeit des Reinigungs-  
verfahrens. Sechs der sechs gereinigten Anti-AT<sub>1</sub>-AABs  
zeigten die Zunahme der Schlagfrequenz/min (>24,4). Mit  
Überstand behandelte Kulturen bewirkten dagegen keine oder  
5 nur mäßige Änderungen der Schlagfrequenz (<10,0).

Das Verfahren der Coimmunpräzipitation des AT<sub>1</sub>-Rezeptors  
war ähnlich der Methode des  $\beta_1$ -Adrenorezeptors (Wallukat,  
2001). Die Unterschiede sind: es wurden lysierte Membranen  
10 transfizierter CHO-Zellen (Couchon, 1997) für die  
Coimmunpräzipitation verwendet. Die lysierten Membranen  
sollten frisch hergestellt werden. Die Proteine wurden  
identifiziert mit Hilfe eines Antikörpers gegen ein Peptid  
mit der Sequenz des N-terminalen Teils des AT<sub>1</sub>-Rezeptors,  
15 der in Kaninchen erzeugt worden war (N10, 1 :100, Santa  
Cruz), und durch Western-Blot und ECL-System mit  
Anti-Kaninchen-IgG-Peroxidase-Konjugaten (1 : 10 000,  
Sigma) nachgewiesen.

20 Figur 1 zeigt die Ergebnisse des Western-Blots. Eine Bande  
(Molekulargewicht >40,0 kDa) konnte mit Hilfe interner  
positiver Proben (lysierte Membranen transfizierter  
CHO-Zellen und menschliches Plazenta-Gewebe) exakt erfasst  
werden. Bei früheren Experimenten (Neichel, unveröffent-  
25 lichte Daten) konnte diese Bande durch die Peptide  
blockiert werden, die zur Herstellung der N10-Antikörper  
verwendet wurden. Diese Bande fehlte in reinen Sepharose-  
Proben und in den Überständen der Reinigungsexperimente.

30 Die Ergebnisse zeigen die Nützlichkeit des bildgebenden  
Computersystems IMAGOQUANT beim Nachweisen der Zunahme der

Schläge/min durch  $AT_1$ -AABs bei Patientinnen mit Präeklampsie. Der enzymgekoppelte Immuntest sollte mit Seren von Präeklampsie-Patientinnen und gesunden Spendern geprüft werden. Die gereinigten  $AT_1$ -AABs können zur weiteren Untersuchung der Pathogenese der Präeklampsie verwendet werden.

**Tabelle 1**

Messung der  $AT_1$ -Autoantikörper mit Hilfe eines enzymgekoppelten Immuntests

10

IgG	n	Optische Dichte (OD, 492 nm) Bereich
Gesunde (Kontrollen)	3	0,036 - 0,069
Präeklampsische Frau		
positiv	15	0,071 - 0,786
negativ	4	0,021 - 0,069

15



Tabelle 2

Einfluss von Überständen und Eluaten der magnetischen Teilchen auf die Schlagfrequenz kultivierter Kardiomyozyten neugeborener Ratten

5

Patientin/ Tag des Experiments	Proben	OD	$\mu\text{g/ml}$	Bioassay (Zunahme der Schläge/min)		
				1:100	1:50	1:20
D. 19.03.02	Überstand	4,300	3071,4	6,0 $\pm$ 0,0	6,0 $\pm$ 0,0	10,0 $\pm$ 1,6
	Eluat	0,086	61,4	12,8 $\pm$ 1,6	27,6 $\pm$ 2,0	34,4 $\pm$ 1,2
D. 27.05.02	Überstand	6,820	4871,4	-1,6 $\pm$ 0,8	4,0 $\pm$ 1,2	6,4 $\pm$ 1,2
	Eluat	0,033	23,6	12,1 $\pm$ 2,4	18,9 $\pm$ 0,5	24,5 $\pm$ 0,8
D. 03.06.02	Überstand			3,3 $\pm$ 0,8	3,2 $\pm$ 0,8	4,7 $\pm$ 1,6
	Eluat	0,0104	74,3	11,1 $\pm$ 1,2	15,2 $\pm$ 2,0	33,9 $\pm$ 2,0

$\pm$  SA vom Mittelwert

**Tabelle 3**

Autoantikörper gegen G-Protein-gekoppelte Rezeptoren

Angaben zu den Epitopen und IgG Subklasse

5				
	Antikörper gegen Rez.	Erkrankung	Epitop	IgGSubklasse
10	Betal-adren.	dilat. Kardiomyopathie	1. loop	IgG3 u. IgG4
			2. loop	IgG1
	Betal-adren.	Chagas' Kardiomyopathie	2. loop	
	Betal-adren.	Myokarditis	1. loop	IgG3 u. IgG4
15			2. loop	IgG1
	muskarin. M2	dilat. Kardiomyopathie	2. loop	IgG1
	muscarin. M2	Chagas' Kardiomyopathie	2. loop	
	Ang. II AT1	Präeklampsie	2. loop	IgG3
	Ang. II AT1	humorale Nierenabstoßung	2. loop	IgG1 u. IgG3
	Ang. II AT1	maligne Hypertonie	2. loop	IgG1 u. IgG3
	Alpha1-adren.	essentielle Hypertonie	1. loop	IgG1 u. IgG3
			2. loop	IgG2
20	Alpha1-adren.	refraktäre Hypertonie	1. loop	IgG1 u. IgG3
			2. loop	IgG2
	Alpha1-adren.	pulmonare Hypertonie	1. loop	IgG 1 u. IgG3
	Alpha1- adren.	Psoriasis	1. loop	IgG 2
25			2. loop	
	PAR-1 u. PAR-2	Raynaud-Syndrom	2. loop	IgG1
	Endothelin IA			

**Legende**

Figur 1: Western-Blot der Coimmunpräzipitation des  
Angiotensin AT<sub>1</sub>-Rezeptors

5     Bahn 1 Protein A/Sepharose; 2 präeklampsische Patientin  
D. ohne Reinigung; 3 KSCN-Eluat; 4 Überstand; 5 lysierte  
CHO-Membranen; 6 lysiertes Plazenta-Gewebe.

### Patentansprüche

1. Verfahren zur Detektion von krankheitsassoziierten  
5 Autoantikörpern, die gegen G-Protein-gekoppelte Rezeptoren gerichtet sind,  
dadurch gekennzeichnet, dass  
das Verfahren folgende Schritte umfasst:  
a) In-Kontakt-Bringen von Körperflüssigkeit mit einem  
10 denaturierenden Agens,  
b) In-Kontakt-Bringen der gefällten Fraktion mit einem Biotin umfassenden Peptid, welches eine Sequenz oder Teilsequenz eines ersten und/oder zweiten Loops des Rezeptors umfasst, wobei eine Mischung  
15 entsteht,  
c) Inkubation der Mischung mit einem Avidin oder Streptavidin-beschichteten Träger,  
d) Waschen der Materialien des Trägers,  
e) Inkubation der Träger mit anti-IgG-Antikörper-  
20 Subklassen, wobei der anti-IgG-Antikörper markiert ist und  
f) Durchführung einer Enzym- oder Farbreaktion.
2. Verfahren nach Anspruch 1,  
25 dadurch gekennzeichnet, dass  
das denaturierende Agens Ammoniumsulfat und/oder Alkohol ist.
3. Verfahren nach Anspruch 1,  
30 dadurch gekennzeichnet, dass

der Träger ein magnetisches Partikel oder eine ELISA-Platte ist.

4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2,  
5 dadurch gekennzeichnet, dass  
die Autoantikörper gegen einen Beta1-adrenergen-Rezeptor, einen muskarinergen M2-Rezeptor, einen Angiotensin II AT1-Rezeptor, einen Alpha1-adrenergen-Rezeptor, einen Endothelin IA-Rezeptor, einen PAR-1, PAR-2  
10 und/oder PAR-3 gerichtet sind.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4,  
dadurch gekennzeichnet, dass  
die gegen den Beta-1-adrenergen Rezeptor gerichteten  
15 Autoantikörper mit der dilatativen Kardiomyopathie, der Chagas' Kardiomyopathie und/oder der Myokarditis, die gegen den muskarinergen M2-Rezeptor mit der dilatativen Kardiomyopathie gerichteten Autoantikörper und/oder der Chagas' Kardiomyopathie, die gegen den Angiotensin II  
20 AT1-Rezeptor gerichteten Autoantikörper mit der Präeklampsie, der humoralen Nierenabstoßung und/oder der malignen Hypertonie, die gegen den Alpha1-adrenergen-Rezeptor gerichteten Autoantikörper mit der essentiellen Hypertonie, der refraktären Hypertonie,  
25 der pulmonaren Hypertonie und/oder der Psoriasis und/oder die gegen den Endothelin IA-Rezeptor, PAR-1, PAR-2 und/oder PAR-3 gerichteten Autoantikörper mit dem Raynaud-Syndrom assoziiert sind.
- 30 6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet, dass

bei der Detektion der dilatativen Kardiomyopathie, der Myokarditis, der essentiellen Hypertonie, der refrak-  
tären Hypertonie, der pulmonaren Hypertonie und/oder  
5 der Psoriasis das Peptid eingesetzt wird, welches eine  
Sequenz oder Teilsequenz des ersten und/oder zweiten  
Loops umfasst und bei der Chagas' Kardiomyopathie, der  
dilatativen Kardiomyopathie, der humoralen Nieren-  
abstoßung und/oder beim Raynaud-Syndrom das Peptid ein-  
10 gesetzt wird, das eine Sequenz oder Teilsequenz des  
zweiten Loops umfasst.

7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet, dass

- 15 - die mit der dilatativen Kardiomyopathie assoziierten  
Autoantikörper mit dem ersten und/oder zweiten Loop  
des Betal-adrenergen Rezeptors in Kontakt gebracht  
werden,
- die mit der Chagas' Kardiomyopathie assoziierten  
20 Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz  
oder Teilsequenz des zweiten Loops des Betal-adre-  
nergen Rezeptors in Kontakt gebracht werden,
- die mit der Myokarditis assoziierten Autoantikörper  
mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder  
25 Teilsequenz des ersten und/oder zweiten Loops des  
Betal-adrenergen Rezeptors in Kontakt gebracht  
werden,
- die mit der dilatativen Kardiomyopathie assoziierten  
Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz  
30 oder Teilsequenz des zweiten Loops des muskarinergen  
M2-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,

- die mit der Chagas' Kardiomyopathie assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops des muskarinergen M2-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,
- 5 - die mit der Präeklampsie assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops des Angiotensin II AT1-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,
- die mit der humoralen Nierenabstoßung assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops des Angiotensin II AT1-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,
- 10 - die mit der malignen Hypertonie assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops des Angiotensin II AT1-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,
- 15 - die mit der essentiellen Hypertonie assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten und/oder zweiten Loops des Alpha1-adrenergen-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,
- 20 - die mit der refraktären Hypertonie assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten und/oder zweiten Loops des Alpha1-adrenergen-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,
- 25 - die mit der pulmonaren Hypertonie assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten und/oder zweiten Loops des Alpha1-adrenergen-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,
- 30 - die mit der pulmonaren Hypertonie assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten und/oder zweiten Loops des Alpha1-adrenergen-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,

- die mit der Psoriasis assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten und/oder zweiten Loops des Alpha1-adrenergen-Rezeptors in Kontakt gebracht werden,  
5
  - die mit dem Raynaud-Syndrom assoziierten Autoantikörper mit dem Peptid umfassend eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten und/oder zweiten Loops des Endothelin IA-Rezeptor, PAR-1, PAR-2 und/oder PAR-3  
10 in Kontakt gebracht werden.
8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass
- die IgG-Subklassen IgG1, IgG2, IgG3 und/oder IgG4 Sub-  
15 klassen sind.
9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass
- bei der dilatativen Kardiomyopathie die IgG3 und/oder IgG4 Subklassen verwendet werden, wenn das  
20 Peptid eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten Loops umfasst, und/oder die IgG1 Subklasse, wenn das Peptid eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops umfasst,
  - bei der Chagas' Kardiomyopathie die IgG1, IgG2, IgG3 und/oder IgG4 Subklassen verwendet werden,
  - bei der Myokarditis die IgG3 und/oder IgG4 Subklassen verwendet werden, wenn das Peptid eine  
25 Sequenz oder Teilsequenz des ersten Loops umfasst



- und/oder die IgG1 Subklasse, wenn das Peptid eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops umfasst,
- bei der Präeklampsie die IgG3 Subklasse verwendet wird,
  - 5     - bei der humoralen Nierenabstoßung die IgG1 und IgG3 Subklasse verwendet wird,
  - bei der malignen Hypertonie die IgG1 und/oder IgG3 Subklasse verwendet wird,
  - bei der essentiellen Hypertonie die IgG1 und/oder
  - 10    IgG3 Subklassen verwendet werden, wenn das Peptid eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten Loops umfasst und/oder die IgG2 Subklasse verwendet wird, wenn das Peptid eine Sequenz oder Teilsequenz des zweiten Loops umfasst,
  - 15    - bei der refraktären Hypertonie die IgG1 und/oder IgG3 Subklassen verwendet werden, wenn das Peptid eine Sequenz oder Teilsequenz des ersten Loops umfasst und/oder die IgG2 Subklasse verwendet wird, wenn das Peptid eine Sequenz oder Teilsequenz des
  - 20    zweiten Loops umfasst,
  - bei der pulmonaren Hypertonie die IgG1, IgG2, IgG3 und/oder IgG4 Subklassen verwendet werden,
  - bei der Psoriasis die IgG1, IgG2, IgG3 und/oder IgG4 Subklassen verwendet werden und/oder
  - 25    - bei dem Raynaud-Syndrom die IgG1 Subklasse verwendet wird.

10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass
- 30    die Autoantikörper vor dem Nachweis aufkonzentriert oder gereinigt werden.

11. Verfahren nach dem vorhergehenden Anspruch,

dadurch gekennzeichnet, dass

die Aufkonzentration oder Reinigung der Autoantikörper  
5 die folgenden Schritte umfasst:

- a) Gewinnung einer IgG-Fraktion aus Körperflüssigkeit,
- b) In-Kontakt-Bringen der gewonnenen IgG-Fraktion mit  
einem Peptid, welches eine Teilsequenz eines ersten  
oder zweiten Loops eines G-Protein-gekoppelten  
10 Rezeptors umfasst, wobei eine Mixtur gewonnen wird,
- c) Inkubation der Mixtur mit einem Träger, der  
gewaschen und konzentriert wird und
- d) Eluieren der Autoantikörper von dem aufkonzentrier-  
ten Träger.

12. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet, dass

das Peptid, welches die Sequenz oder Teilsequenzen des  
ersten und/oder zweiten Loops umfasst, ausgewählt ist  
20 aus der Gruppe umfassend EYGSFF, SFFCEL, ARRCYND, PKCCDF,  
AESDE, CYIQFF, EDGE CY, VRTVEDGE CYIQFFSNAAVTFGTAL,  
AFHYESQ, ENTNIT, FWA FGR, GRA FCDV, ITEEAGY, ERFCGL, GRIFCD  
und/oder ITTCHDVL.

13. Verfahren nach dem vorhergehenden Anspruch,

dadurch gekennzeichnet, dass

das Peptid Aminogruppen, Amide, Acetylgruppen, Biotin-  
gruppen, Marker, Spacer, Linker, GKK und/oder SGKK  
umfasst.

## 14. Verfahren nach dem vorhergehenden Anspruch,

dadurch gekennzeichnet, dass

der Linker und/oder der Spacer ausgewählt sind aus der Gruppe umfassend  $\alpha$ -Aminocarbonsäuren sowie deren Homo- und Heterooligomere;  $\alpha,\omega$ -Aminocarbonsäuren sowie deren verzweigte Homo- oder Heterooligomere; sonstige Aminosäuren sowie die linearen und verzweigten Homo- oder Heterooligomere; Amino-oligoalkoxy-alkylamine; Maleinimidocarbonsäure-Derivate; Oligomere von Alkylaminen; 4-Alkylphenyl-Derivate; 4-Oligoalkoxyphenyl- oder 4-Oligoalkoxyphenoxy-Derivate; 4-Oligoalkylmercaptophenyl- oder 4-Oligoalkylmercaptophenoxy-Derivate; 4-Oligoalkylaminphenyl- oder 4-Oligoalkylaminyphenoxy-Derivate; (Oligoalkylbenzyl)-phenyl- oder 4-Oligoalkylbenzyl)-phenoxy-Derivate sowie 4-Oligoalkoxybenzyl)-phenyl- oder 4-Oligoalkoxybenzyl)-phenoxy-Derivate; Trityl-Derivate; Benzyloxyaryl- oder Benzyloxyalkyl-Derivate; Xanthen-3-yl-oxyalkyl-Derivate; (4-Alkylphenyl)- oder  $\omega$ -(4-Alkylphenoxy)-alkansäure-Derivate; Oligoalkyl-Phenoxyalkyl- oder Oligoalkoxy-phenoxyalkyl-Derivate; Carbamat-Derivate; Amine; Trialkylsilyl- oder Dialkyl-alkoxysilyl-Derivate; Alkyl- oder Aryl-Derivate und/oder Kombinationen davon.

25

## 15. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet, dass

das Peptid durch Deletion, Addition, Substitution, Translokation, Inversion und/oder Insertion modifiziert ist.

30

16. Peptid ausgewählt aus der Gruppe umfassend EYGSFF, SFFCEL, ARRCYND, PKCCDF, AESDE, CYIQFF, EDGECEY, VRTVEDGECYIQFFSNAAVTFGTAI, AFHYESQ, ENTNIT, FWAFFGR, GRAFCDV, ITEEAGY, ERFCGI, GRIFCD und ITTCHDVL zur  
5 Verwendung als medizinischer Wirkstoff.
17. Peptid nach dem vorhergehenden Anspruch, dadurch gekennzeichnet, dass  
das Peptid von Autoantikörpern von Patienten mit einer  
10 der folgenden Krankheiten gebunden wird: dilatative Kardiomyopathie, Chagas' Kardiomyopathie, Myokarditis, Präeklampsie, humorale Nierenabstoßung, maligne Hypertonie, essentielle Hypertonie, refraktäre Hypertonie, pulmonare Hypertonie, Psoriasis und/oder  
15 Raynaud-Syndrom.
18. Peptid nach Anspruch 15 oder 16, dadurch gekennzeichnet, dass das Peptid immobilisiert ist.  
20
19. Peptid nach dem vorhergehenden Anspruch, dadurch gekennzeichnet, dass das Peptid an eine Festphase gebunden ist.
20. Erkennungsmolekül gerichtet gegen das Peptid gemäß einem der Ansprüche 16 bis 19.  
25
21. Erkennungsmolekül nach dem vorhergehenden Anspruch, dadurch gekennzeichnet, dass

es ein Antikörper, ein Lektin, ein Antisense-Konstrukt und/oder ein Chelator ist.

22. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend ein Peptid  
5 gemäß einem der Ansprüche 16 bis 19 und/oder ein  
Erkennungsmolekül nach Anspruch 20 oder 21.
23. Kit, umfassend ein Peptid nach einem der Ansprüche 16  
bis 19, ein Erkennungsmolekül nach Anspruch 20 oder 21  
10 und/oder eine pharmazeutische Zusammensetzung nach  
Anspruch 22, gegebenenfalls mit einer Anweisung zum  
Kombinieren der Inhalte des Kits und/oder zum  
Bereitstellen einer Formulierung.
- 15 24. Chromatographievorrichtung, umfassend Peptide gemäß  
einem der Ansprüche 16 bis 19 und/oder  
Erkennungsmoleküle nach Anspruch 20 oder 21.
25. Vorrichtung nach dem vorhergehenden Anspruch,  
20 dadurch gekennzeichnet, dass  
die Peptide an eine Festphase gebunden sind.
26. Verwendung der Peptide nach einem der Ansprüche 16 bis  
19 und/oder Erkennungsmoleküle nach Anspruch 20 oder 21  
25 und/oder einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach  
Anspruch 22 und/oder eines Kits nach Anspruch 23  
und/oder einer Vorrichtung nach Anspruch 24 bis 25 zur  
Prophylaxe, Diagnose, Therapie, Verlaufskontrolle  
und/oder Nachbehandlung von Autoimmunkrankheiten aus-  
30 gewählt aus der Gruppe umfassend die dilatative Kardio-  
myopathie, die Chagas' Kardiomyopathie, die Myokardi-

tis, die Präeklampsie, die humorale Nierenabstoßung, die maligne Hypertonie, die essentielle Hypertonie, die refraktäre Hypertonie, die pulmonare Hypertonie, die Psoriasis und/oder das Raynaud-Syndrom.

5

27. Verwendung der Peptide nach einem der Ansprüche 16 bis 19 und/oder Erkennungsmoleküle nach Anspruch 20 oder 21 und/oder einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach Anspruch 22 und/oder eines Kits nach Anspruch 23 und/oder einer Vorrichtung nach Anspruch 24 bis 25 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Autoimmunkrankheiten ausgewählt aus der Gruppe umfassend die dilatative Kardiomyopathie, die Chagas-Kardiomyopathie, die Myokarditis, die Präeklampsie, die humorale Nierenabstoßung, die maligne Hypertonie, die essentielle Hypertonie, die refraktäre Hypertonie, die pulmonare Hypertonie, die Psoriasis und/oder das Raynaud-Syndrom.

28. Verwendung der Peptide nach einem der Ansprüche 16 bis 19 und/oder Erkennungsmoleküle nach Anspruch 20 oder 21 und/oder einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach Anspruch 22 und/oder eines Kits nach Anspruch 23 und/oder einer Vorrichtung nach Anspruch 24 bis 25 zum Screenen von Arzneimitteln.

29. Verwendung der Peptide nach einem der Ansprüche 16 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass gegen Beta1-adrenergen-Rezeptor, muskarinergen M2-Rezeptor, Angiotensin II AT1-Rezeptor, AlphaI-

adrenergen-Rezeptor, Endothelin IA, PAR-1, PAR-2 und/oder PAR-3 gerichtete Autoantikörper detektiert, gebunden, komplexiert und/oder neutralisiert werden..

- 5 30. Verfahren zur Behandlung einer Autoimmunkrankheit, ausgewählt aus der Gruppe umfassend die dilatative Kardiomyopathie, die Chagas' Kardiomyopathie, die Myokarditis, die Präeklampsie, die humorale Nierenabstoßung, die maligne Hypertonie, die essentielle  
10 Hypertonie, die refraktäre Hypertonie, die pulmonare Hypertonie, die Psoriasis, das Raynaud-Syndrom durch eine Bindung und/oder Entfernung von Autoantikörpern mittels von an eine Festphase gebundenen Peptiden nach einem der Ansprüche 16 bis 19.

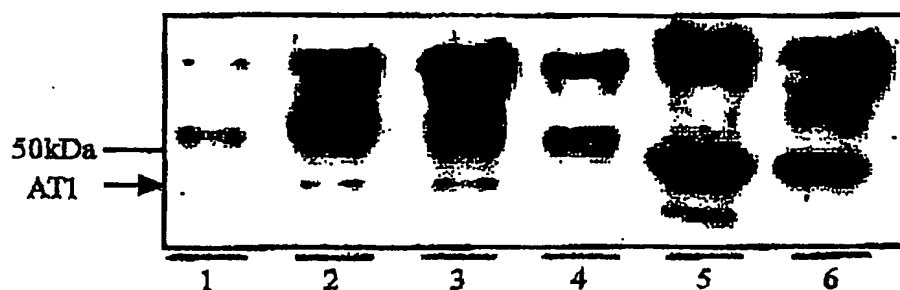
15

31. Verfahren nach dem vorhergehenden Anspruch, dadurch gekennzeichnet, dass  
die Autoantikörper bei der dilatativen Kardiomyopathie gegen Beta1-adrenerge Rezeptoren, bei der Chagas'  
20 Kardiomyopathie gegen Beta-1-adrenerge Rezeptoren, bei der Myokarditis gegen Beta-1-adrenerge Rezeptoren, bei der dilatativen Kardiomyopathie gegen muskarinerge M2-Rezeptoren, bei der Chagas' Kardiomyopathie gegen muskarinerge M2-Rezeptoren, bei der Präeklampsie gegen  
25 Angiotensin II AT1-Rezeptoren, bei der humoralen Nierenabstoßung gegen Angiotensin II AT1-Rezeptoren, bei der malignen Hypertonie gegen Angiotensin II AT1-Rezeptoren, bei der essentiellen Hypertonie gegen Alpha1-adrenerge-Rezeptoren, bei der refraktären Hyper-  
30 tonie gegen Alpha1-adrenerge-Rezeptoren, bei der pulmonaren Hypertonie gegen Alpha1-adrenerge-Rezeptoren,

bei der Psoriasis gegen Alpha1-adrenerge-Rezeptoren, die Autoantikörper bei dem Raynaud-Syndrom gegen Endothelin 1A, PAR-1, PAR 2 und/oder PAR-3 gerichtet sind.



BEST AVAILABLE COPY



Figur 1